

**ÜBER EINE IMMUNOLOGISCHE METHODE
DER GONADOTROPINBESTIMMUNG AUS DEM HARN
VON MÄNNERN MIT HILFE VON PREGNOSTICON^R**

von
Josef Wutz
aus Freyung

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548619_0084

Aus der Klinik und Poliklinik für Haut - und
Geschlechtskrankheiten der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. C. M. Hasselmann

ÜBER EINE IMMUNOLOGISCHE METHODE DER
GONADOTROPINBESTIMMUNG AUS DEM HARN VON
MÄNNERN MIT HILFE VON PREGNOSTICON^R.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Josef Wutz
aus Freyung

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. K.G. Ober

Referent: Professor Dr. C.M. Hasselmarn

Tag der mündlichen Prüfung: 8. April 1967

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINFÜHRUNG	
a) Die hypophysären Gonadotropine und ihre Bedeutung für die Diagnose der männlichen Fertilitätsstörungen	3
b) Die Schwierigkeiten beim quantitativen Nach- weis der hypophysären Gonadotropine	5
2. GRUNDLAGEN DES HÄMAGGLUTINATIONSHemmungSTESTES ZUR QUALITATIVEN UND QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES HCG NACH WIDE UND GENZELL	7
3. PROBLEMSTELLUNG Frage, ob der Hämagglutinationshemmungstest zur quantitativen Bestimmung hypophysärer Gonado- tropine herangezogen werden kann	9
4. BESCHREIBUNG DER EXTRAKTION HYPOPHYSÄRER GONADO- TROPINE AUS DEM URIN NACH DER METHODE VON TAUBERT UND WELLER	10
5. BESCHREIBUNG DES PREGNOSTICONTTESTES *	11
6. VORVERSUCHE UND DEREN ERGEBNISSE	11
7. HAUPTVERSUCHE	16
8. TABELLEN	17
9. STATISTISCHE AUSWERTUNG	24
10. ERGEBNISSE DER HAUPTVERSUCHE	27
11. PRAKTISCHE ERPROBUNG DER METHODE AN DREI FÄLLEN VON HYPOGONADISMUS (KLINEFELTER-SYNDROM, IDIO- PATHISCHE TUBULUSDEGENERATION und BEIDSEITIGER KRYPTORCHISMUS)	27
12. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND ZUSAMMENFASSUNG ...	30

Herrn Prof. Dr. med. C. M. Hasselmann danke ich
für die Überlassung des Themas sowie für die
Möglichkeit, die Arbeit experimentell in der
Hautklinik durchführen zu können.

Herrn Dr. med. K. Schuba danke ich für seine
stets freundliche Unterstützung.

1. EINFÜHRUNG

a) Die hypophysären Gonadotropine und ihre Bedeutung für die Diagnose der männlichen Fertilitätsstörungen:

Für die Diagnose männlicher Fertilitätsstörungen ist oft die Frage nach der Beteiligung des Endokriniums mit von entscheidender Bedeutung.

Der hierbei interessierende glanduläre Funktionskreis von Hypophysenvorderlappen und Testes kann in seiner biologischen Wertigkeit durch Bestimmung der Ausscheidung von Gonadotropinen sowie der androgenen Hormone und ihrer Metaboliten überprüft werden.

Eine Unterfunktion des endokrinen Anteils der männlichen Gonaden geht mit einer Verminderung der Androgen- bzw. ihrer Metabolitenausscheidung einher.

Die endokrinologische Leistung der Testes kann durch Bestimmung der 17-Ketosteroide in der Methode nach ZIMMERMANN (15) ausreichend genau bestimmt werden.

Dagegen stößt die quantitative Ermittlung der hypophysären Gonadotropine doch auf erhebliche Schwierigkeiten. Dabei ist gerade die Kenntnis der täglichen Gonadotropinausscheidung unerlässlich, wenn entschieden werden soll, ob ein primärer oder sekundärer Gonadenschaden vorliegt:

Bei einem primären Hypogonadismus ist die tägliche Gonadotropinausscheidung normal oder erhöht,

bei einem sekundären, hypophysär bedingten, jedoch vermindert (1, 5, 6, 7, 10).

Bei den interessierenden Gonadotropinen handelt es sich um wasserlösliche Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von 30 000 - 100 000. Sie enthalten Hexosamin als Bestandteil und werden im Organismus nicht gespeichert, sondern entweder im Blut inaktiviert oder im Harn ausgeschieden.

Wir kennen:

- a) ein "Follikelstimulierendes Hormon" (FSH), das in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet wird und bei der Frau die Follikelreifung, beim Mann die Spermiohistogenese und das Wachstum der Tubuli stimuliert.
- b) ein "Luteinisierungshormon" (LH=ICSH), das in den eosinophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet wird und bei der Frau den Follikelsprung und die Bildung des Corpus luteum, zusammen mit dem FSH die Oestrogen- und unter Mitbeteiligung des Prolaktin die Progesteronproduktion stimuliert. Beim Mann stimuliert es die Synthese und Sekretion des Testosterons und regt das Wachstum der Tubuli und der akzessorischen Sexualorgane an.
- c) ein Prolaktin, das eine luteotrope Wirkungskomponente besitzt.
- d) ein "Serumgonadotropin" (PMS), das in Endometrium und Chorionzotten schwangerer Stuten gebildet wird, Es gilt als sicher, daß die Hypophyse des Pferdes im Gegensatz

zu der des Menschen auch in der Schwangerschaft Gonadotropine produziert. Das PMS entspricht in seiner Wirkung weitgehend der Wirkung der hypophysären Gonadotropine. Es ist nicht harnfähig.

- e) ein "Humanchoriongonadotropin" (HCG), das in den Langhansschen Zellen der Chorionzotten der Placenta gebildet wird und in der Schwangerschaft die Funktion des LH übernimmt, da Oestrogene und Progesteron die hypophysäre Produktion hemmen. (3)

b) Die Schwierigkeiten beim quantitativen Nachweis der hypophysären Gonadotropine:

Zum Nachweis der hypophysären Gonadotropine fanden bisher ausschließlich verschiedene Tierversuche Verwendung.

In der Regel begnügt man sich mit der gemeinsamen Erfassung von FSH und LH und wertet sie quantitativ im Sinne eines indirekten Stimulationseffektes am Uterus einer hypophysektomierten infantilen Maus oder Ratte aus, dessen Gewichtszunahme als Folge der gemeinsamen FSH- und LH-Wirkung und der damit ausgelösten Sekretion ovarieller Hormone gewertet wird.

Zur quantitativen Auswertung wird der Gewichtsanstieg des infantilen Uterus im Vergleich zum Gewicht desjenigen eines unbehandelten Kontrolltieres gesetzt, der etwa 4 - 7 mg beträgt. (5)

Wegen der geringen Menge der im Harn ausgeschiedenen Gonadotropine erfordert der biologische Nachweis eine Konzentration der Wirkstoffe aus größeren Urinmengen. Die derzeitigen Nachweismethoden sind unbefriedigend, da keine internationalen Einheiten bestehen und die Ergebnisse z.B. in willkürlichen Mäuseuteruseinheiten angegeben werden müssen, wobei eine Mäuseuteruseinheit als diejenige Hormonmenge definiert ist, die an infantilen Mäusen von 6 - 10 gr Gewicht im Alter von 17 - 21 Tagen bei täglich einer Injektion der gonadotropinhaltigen Harnaufbereitung innerhalb 72 Stunden eine Zunahme des Uterusgewichtes um 100 - 150 % hervorruft. (Methode nach LEVIN und TYNDALE). (KLINFELTER, ALBRIGHT, GRISWOLD). (5, 8, 9).

Diese Tiereinheiten differieren von Labor zu Labor und sind für statistische Zwecke ungeeignet.

Schließlich sind die aus dem Urin mittels Alkohol oder Aceton ausgefällten und konzentrierten Extrakte für die Versuchstiere häufig toxisch.

Die so gefundenen Werte betragen nach TAUBERT für einen gesunden Mann pro Tag zwischen 20 - 40 MUE, für einen Knaben zwischen 11 und 13 Jahren 2 - 3 MUE. (5, 12).

Nach KLINFELTER liegt die tägliche Gonadotropinausscheidung zwischen 6,6 - 53 MUE beim Mann und bei 6,6 bis weniger als 53 MUE bei der Frau. (5, 8).

Das Verhältnis von FSH zu ICSH=LH beträgt dabei beim Mann 2 : 1, bei der Frau 3 : 1.

Nach dem Erlöschen der Gonadenfunktion umfaßt das FSH 80 - 90 % der Harngonadotropine. (5, 4).

Im Gegensatz zu den hypophysären Gonadotropinen ist aber für das Humanchoriongonadotropin HCG eine internationale Einheit definiert und zwar als Aktivität eines Standardpraeparates von 0,1 mg. Die Bestimmung erfolgt durch die Auswertung des Gewichtszuwachses der Prostata oder der Vesikulardrüsen bei infantilen Mäusen. (3).

1960 wurde eine neue Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von HCG beschrieben, der Hämagglutinationshemmungstest nach WIDE und GEMZELL (14), der unter dem Namen Pregnosticon^R von der Fa. Organon herausgebracht und für die Schwangerschaftsfrühdiagnose verwendet wird.

2. GRUNDLAGEN DES HÄMAGGLUTINATIONSCHEMUNGSTESTES ZUR QUALITATIVEN BESTIMMUNG DES HCG NACH WIDE UND GEMZELL (14)

Bringt man mit HCG sensibilisierte Erythrozyten mit Antiserum von mit HCG immunisierten Kaninchen zusammen, dann tritt eine passive Hämagglutination und diffuse Sedimentation auf. Das gleiche Bild erhält man, wenn man Antiserum, Harn einer Nichtschwangeren (also ohne HCG) und sensibilisierte Erythrozyten zusammenbringt (negative Schwangerschaftsreaktion). Fügt man jedoch Schwangerenharn hinzu, dann bindet sich das darin vorhandene HCG mit dem Antiserum,

so daß die Agglutination verhindert wird und sich ein scharf abgegrenzter bräunlicher Sedimentationsring bildet (positive Schwangerschaftsreaktion).

Anti-HCG-Serum

+ sensibilisierte Erythrozyten



Anti-HCG-Serum

+ sensibilisierte Erythrozyten

+ HCG



Der Test ist so eingestellt, daß mit ihm in 0,1 ml einer gonadotropinhaltigen Flüssigkeit 0,1 Einheit HCG nachgewiesen werden kann.

Dieser Test ist nicht nur bei Schwangeren positiv, sondern er kann auch bei Frauen in der Menopause und gelegentlich bei Männern positiv ausfallen (Angabe des Herstellers). Der Harn dieser Probanden enthält aber kein HCG, sondern vermehrt hypophysäre Gonadotropine.

Der Pregnostikontest spricht also nicht nur auf HCG an, sondern offensichtlich auch auf die hypophysären Gonadotropine.

3. PROBLEMSTELLUNG

Frage, ob der Hämagglutinationshemmungstest zur quantitativen Bestimmung hypophysärer Gonadotropine herangezogen werden kann.

Wir haben uns gefragt, ob es nicht möglich sei, mit Hilfe des Pregnosticontestes die hypophysären Gonadotropine im Urin des Mannes quantitativ zu erfassen, um somit die Möglichkeit zu haben, beim Vorliegen einer Hodeninsuffizienz zu entscheiden, ob ein primärer oder sekundärer Gonadenschaden vorliegt.

Voraussetzung für den Nachweis der Gonadotropine ist deren Extraktion und Anreicherung aus dem Harn.

Die Extraktionsverfahren umfassen unter anderem die Ausfällung durch Alkohol (HELLER und HELLER 1939) (SMITH, ALBRIGHT und DODGE 1943) oder Aceton (FRANK und SALMON 1935), Permutit (KATZMANN u. Mitarb. 1943), die Adsorptionschromatographie (nach TAUBERT und WELLER 1956), die Ultrafiltration (GORBMANN 1945; JUNGCK, MADDOCK und HELLER 1947), die Gerbsäureausfällung (LEWIN und TYNDALE 1936; LEVIN 1941), die Kaolin-Adsorption) SCOTT 1941; LORAIN und BROWN 1954, 1956, 1958; MC ARTHUR 1951) u.a.m.

Aus der großen Anzahl der zur Verfügung stehenden Methoden zur Gewinnung der Harngonadotropine wählten wir die Adsorptionschromatographie an Permutit nach TAUBERT und WELLER aus. Sie läßt sich sowohl zur Beurteilung verringerter

wie vermehrter Gonadotropinausscheidung verwenden (11). Die Verluste an Gonadotropinen betragen 10 - 15 % (13). Gegenüber der Alkoholfällungs-Dialysiermethode liegt bei ihr die Gonadotropinausbeute um 15 - 20 % höher. Ferner kommt sie mit den geringsten Alkoholmengen aus (5).

4. BESCHREIBUNG DER EXTRAKTION HYPOPHYSÄRER GONADOTROPINE AUS DEM URIN NACH DER METHODE VON TAUBER UND WELLER

Zur Aufarbeitung gelangt die halbe 24-Stundenmenge Urin. Ansäuern mit Eisessig auf pH 4.

Der Ansatz wird durch 60 cm lange mit Permutit gefüllte Chromatographieröhren von 1,2 cm lichter Weite geschickt. Nach dem Passieren des Urins erfolgt Anschluß der Säulen an die Wasserstrahlpumpe zum Trocknen des Permutits.

Eluieren mit 60 ml einer 10 %-igen Ammoniumacetatlösung in 35 %-igem Alkohol

Das Eluat wird in 250 ml fassenden Zentrifugengläsern aufgefangen und Erhöhung der Alkoholkonzentration durch Auffüllen der Gläser mit 95 %-igem Alkohol ausgefällt.

Auf 6-stündiges Stehenlassen im Kühlschrank folgt ein 3 Minuten langes Zentrifugieren bei 3000 U / min.

Das Praecipitat haftet fest am Glas. Der Alkohol kann nunmehr abgegossen werden. Trocknen des Praecipitates im

Vakuuexsiccator über CaCl_2 . Waschen mit Äther zum Entfernen der Oestrogene. Vollständiges Trocknen im Exsiccator.

5. BESCHREIBUNG DES PREGNOSTICONTTESTES

(Nach Angabe des Herstellers)

Die Reaktion erfolgt in Ampullen mit bauchigem Boden, die das Antiserum in trockengefrorenem Zustand enthält.

Zu dem Antiserum pipetiert man eine Probe (0,1 ml) der zu untersuchenden Flüssigkeit. Die ebenfalls trockengefrorenen Erythrozyten werden mit 4 ml der beigefügten Lösung - "pro suspensione" - suspendiert. Von dieser Suspension fügt man dem Antiserum-Flüssigkeitsgemisch 0,4 ml hinzu und schüttelt kräftig 1 Minute lang.

Ablesen nach 2 - 3 Stunden.

Hat sich ein deutlicher Ring gebildet, so ist die Reaktion positiv.

Bei einer negativen Reaktion bildet sich ein diffuser bräunlicher Bodensatz.

6. VORVERSUCHE UND DEREN ERGEBNISSE

1. Zunächst führten wir den Pregnosticontest mit Serumgonadotropin durch, das in seiner Wirkung am Endorgan weit-

gehend den hypophysären Gonadotropinen gleicht und das von TAUBERT und WELLER (13) bei ihren Versuchen zur adsorptionschromatographischen Gewinnung der hypophysären Gonadotropine verwendet wurde.

Wir verwendeten "Anteron" (Schering).

Dabei bekamen wir wie bei der Verwendung von HCG (Predalon, Organon) in den Testampullen einen Ring aus den mit HCG sensibilisierten Erythrocyten und zwar bei einer Konzentration von 0,1 I.E. / 0,1 ml.

Wir kamen überein, diejenige Menge Serumgonadotropin oder hypophysärer Gonadotropine, die mit dem Pregnosticonest^R eben noch in 0,1 ml nachgewiesen werden kann, als 0,1 Einheit zu bezeichnen.

2. In einem zweiten Versuch wurde aus einer Lösung, die 20 I.E. Serumgonadotropin ("Anteron") enthielt, dieses nach der von TAUBERT und WELLER (13) beschriebenen Methode wieder zurückgewonnen.

Dabei wurde eine 30 cm lange Chromatographiesäule mit 1,2 cm lichter Weite verwendet.

Die Hälfte des Eluates wurde mit 10% - iger Ammoniumacetatlösung in 35% - igem Äthanol auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt und das Serumgonadotropin durch Auffüllen mit reinem Äthanol auf 250 ml ausgefällt.

Nach dem Abkühlen wurde zentrifugiert. Anschließend erfolgte Trocknen und Zerreiben des Praecipitats.

Dem zerriebenen Praecipitat wurde 1 ml Phosphatpuffer zugesetzt. Von dieser Stammsuspension ausgehend wurde eine geometrische Verdünnungsreihe hergestellt, indem 0,5 ml der Stammsuspension mit 0,5 ml Phosphatpuffer verdünnt wurden; aus 0,5 ml dieser Verdünnung Nr. I wurde durch Zugabe von 0,5 ml Phosphatpuffer die Verdünnung Nr. II, daraus in gleicher Weise die Verdünnung Nr. III und daraus Verdünnung Nr. IV hergestellt. Somit verminderte sich die Gonadotropinkonzentration mit jeder Verdünnung um die Hälfte. Mit je 0,1 ml dieser Verdünnungen wurde der Pregnosticontest angestellt.

Dabei ergaben die Verdünnungen Nr. I, II, und III positive Reaktionen; der Test mit der Verdünnung Nr. IV fiel negativ aus.

Bei Annahme der Empfindlichkeitsgrenze von 0,1 E / 0,1 ml entspricht das :

$0,1 \times 2 \times 2 \times 2 \times 10 = 8$ Einheiten.

Da in der Hälfte des gewonnenen Eluats 10 E zu erwarten waren, zeigt dieser orientierende Versuch, daß der Verlust an der Säule unter 20 % bleibt, was mit den Angaben von TAUBERT und WELLER (13) übereinstimmt.

3. In einer dritten Versuchsreihe stellten wir Versuche mit Männerurin an.

1/10 der Tagesausscheidung eines Mannes wurde mit Eisessig auf pH 4 angesäuert und durch das 30 cm lange ,mit Permutit gefüllte Chromatographierohr geschickt. Nach dem Trocknen des Permutits erfolgte die Eluierung mit 60 ml der 10%-igen Ammoniumacetatlösung in 35%-igem Äthanol. Ausfällen der Gonadotropine durch Auffüllen mit 96%-igem Äthanol auf 250 ml. Abgießen des Äthanols. Trocknen des Praecipitats. Feines Zerreiben mit dem Homogenisator. Herstellen der Stammsuspension und der Verdünnungen. Der Pregnosticontest wurde mit je 0,1 ml der Verdünnungen Nr I, II, III, IV angestellt.

Dabei ergab noch der Test mit der Verdünnung Nr II eine positive Reaktion.

Das bedeutet:

$$0,1 \times 2 \times 2 \times 10 = 4 \text{ Einheiten} / 1/10 \text{ Tagesausscheidung} \\ = 40 \text{ Einheiten} / \text{die}$$

In einem Parallelversuch wurden der gleichen Menge des gleichen Urins 5 Einheiten Serumgonadotropin zugegeben. Diesmal war noch der Test mit der Verdünnung Nr. III positiv.

Das bedeutet:

$$0,1 \times 2 \times 2 \times 2 \times 10 = 8 \text{ Einheiten} / 1/10 \text{ Tagesausscheidung (4 E)} \\ + \text{ Zusatz (5 E)}$$

Bei diesem Versuch betrug der Verlust an Gonadotropinen somit ca. 10 %.

4. In einer vierten Versuchsreihe untersuchten wir die Urine von 4 Kindern, zweier Knaben im Alter von 5 und 6 Jahren und zweier Mädchen von 6 und 7 Jahren. Das 7-jährige Mädchen zeigte bereits wachsende Mammæ.

Wir verwendeten die halbe Tagesmenge, die auch den Morgenurin enthielt:

Befunde:

5-jähriger Knabe:

0,2 ml der Verdünnung Nr. I : positiv = 2 Einheiten / die

6-jähriger Knabe:

0,3 ml der Verdünnung Nr. I : negativ = weniger 1,3 E / die

6-jähriges Mädchen:

0,3 ml der Verdünnung Nr. I : negativ = weniger 1,3 E / die

7-jähriges Mädchen:

0,1 ml der Verdünnung Nr. I : positiv = 4 E / die

Ergebnisse der Vorversuche:

1. Mit dem Pregnosticontest können nicht nur das HCG, sondern offensichtlich auch Serumgonadotropin und hypophysäre Gonadotropine nachgewiesen werden.
2. Bei Verwendung der Verdünnungsreihen kann der Test zur ausreichend genauen halbquantitativen Bestimmung hypophysärer Gonadotropine benutzt werden. Dabei werden mindestens 80 % der Gonadotropine erfaßt.
3. Bei der adsorptionschromatographischen Gewinnung der Gonadotropine nach TAUBERT und WELLER (13) ist für unsere

Nachweismethode 1/10 der Urintagesmenge ausreichend.

Damit kann die Länge des Chromatographierohres auf 30 cm verkürzt werden.

4. Bei der Aufbereitung des Praecipitates kann auf das Auswaschen mit Äther verzichtet werden, da die Östrogene nur im Tierversuch, nicht aber bei unserem immunologischen Nachweis stören können.
5. Es erwies sich als vorteilhaft, die Testampullen nach dem Zustzen der Erythrocytensuspension mindestens 10 Minuten lang zu schütteln. Dadurch kommt im Falle einer positiven Reaktion der Erythrocytenring deutlicher zum Ausdruck.
6. Während bei der Untersuchung des Urins eines Mannes 40 Einheiten / die gefunden wurden, fanden wir in den Urinen von 4 Kindern unter 10 Jahren 2 mal keine Gonadotropine, 1 mal 2, 1 mal 4 Einheiten / die.

7. Hauptversuche

In den folgenden Hauptversuchen untersuchten wir 102 Patienten unserer Klinik, die an verschiedenen Dermatosen litten, mit Hilfe des Pregnosticontestes auf die Menge der im Harn ausgeschiedenen Gonadotropine.

Die Gonadotropine wurden nach der adsorptionschromatographischen Methode von TAUBERT und WELLER (13) aus dem Harn isoliert, wobei wir statt der halben Tagesmenge Harn nur 1 / 10 der Tagesausscheidung aufarbeiteten.

Die Länge der Chromatographieröhre betrug dabei stets 30 cm.

Das Praecipitat wurde in 1 ml Phosphatpuffer suspendiert. Von dieser Stammsuspension ausgehend wurde eine geometrische Verdünnungsreihe mit fortlaufenden Nummern hergestellt. Die nächstfolgende Verdünnung enthielt jeweils die Hälfte der vorhergehenden an Gonadotropinen.

Mit jeweils 0,1 ml dieser Verdünnungssuspensionen wurde der Pregnosticontest ausgeführt.

Diejenige Menge Gonadotropin, die mit dem Pregnosticontest noch in 0,1 ml nachgewiesen werden konnte, wurde als 0,1 Einheit bezeichnet. Daraus konnte errechnet werden, wieviele Einheiten in 1 ml der Stammsuspension enthalten waren. Dieser Wert ist identisch mit der Gonadotropinmenge in einem Zehntel der Harntagesausscheidung.

Bei Bedarf wurden Zwischenwerte dadurch ermittelt, indem der Test statt mit 0,1 ml mit 0,087; 0,075; und 0,062 ml ad 0,1 ml derjenigen Verdünnungssuspension angestellt wurde, welche eben noch eine positive Reaktion zeigte.

Die hierbei gewonnenen Ergebnisse wurden auf den folgenden Seiten, nach 6 Altersgruppen geordnet, dargestellt.

8. TABELLEN

Altersgruppe I (11 - 20 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
1	S., 11	Trichophytie	40 E
2	F., 11	Alopecie	40 E
3	R., 13	Psoriasis vulgaris	20 E
4	O., 14	Cheirpompholyx	40 E
5	K., 15	Akne vulgaris	64 E
6	L., 15	Akne vulgaris	40 E
7	G., 17	Ulerythema oophrog.	80 E
8	H., 18	Psoriasis vulgaris	30 E
9	L., 18	Akne vulgaris	20 E
10	L., 19	Purpura	110 E
11	N., 20	Pyodermie	46 E
12	S., 20	Verbrennung	80 E
13	S., 20	Genitoanalekzem	20 E
14	H., 20	Mykose	30 E
15	K., 20	Handekzem	20 E

Altersgruppe II (21 - 30 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
16	G., 22	Psoriasis vulg.	53 E
17	B., 22	Analekzem	20 E
18	J., 24	General. Ekzem	80 E
19	V., 25	Alopecia areata	20 E
20	P., 25	Neurodermitis	40 E
21	R., 25	nummuldres Ekzem	27 E
22	R., 25	General. Ekzem	80 E
23	K., 26	General. Ekzem	80 E
24	W., 26	Cheilitis granulomat.	83 E
25	J., 26	General. Ekzem	160 E
26	E., 26	Seborrh. Ekzem	46 E
27	H., 27	Genitoanalekzem	53 E
28	P., 27	Fußmykose	128 E
29	S., 27	Onychomykose	32 E
30	S., 27	Cheiropodopompholyx	35 E
31	S., 27	Cheiropodopompholyx	80 E
32	E., 28	M. Duhring	20 E
33	H., 28	Psoriasis vulg.	80 E
34	V., 29	Psoriasis vulg.	13 E
35	K., 29	Hand-Fußekzem	25 E
36	S., 29	Neurodermitis circumscripta	30 E
37	A., 30	General. Ekzem	30 E
38	L., 30	Lues latens	80 E
39	S., 30	Mykotisches Fußekzem	60 E

Altersgruppe III (31 - 40 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
40	D., 31	Psoriasis vulg.	23 E
41	S., 31	Handekzem	100 E
42	M., 32	Epidermophytie	23 E
43	R., 33	Melanom	32 E
44	T., 33	M. Duhring	80 E
45	P., 34	Balanitis	40 E
46	R., 34	Handekzem	23 E
47	L., 35	Cheirpompholyx	18 E
48	M., 35	General. Ekzem	80 E
49	S., 35	Psoriasis vulgaris	23 E
50	S., 35	Psoriasis vulgaris	100 E
51	R., 36	Lingua geographica	27 E
52	B., 37	Furunkel	30 E
53	M., 38	Handekzem	120 E
54	K., 39	Leukoplakie	80 E
55	L., 39	Psoriasis vulgaris	53 E
56	B., 40	Interdigitalmykose	10 E

Altersgruppe IV (41 - 50 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
57	L., 41	General. Ekzem	80 E
58	M., 42	Seborrh. Kopfekzem	80 E
59	J., 43	Psoriasis vulgaris	40 E
60	F., 43	Rhinitis vasomotorica	40 E
61	R., 44	Ulcera cruris	27 E
62	J., 44	Psoriasis vulgaris	10 E
63	H., 45	Handekzem	32 E
64	S., 45	Psoriasis vulgaris	20 E
65	A., 46	General. Ekzem	80 E
66	M., 46	M. Duhring	40 E
67	N., 46	Genitoanalekzem	32 E
68	S., 46	Mykot. Ekzem	12 E
69	P., 47	Cheiropodopompholyx	20 E
70	B., 47	Parapsoriasis	80 E
71	H., 50	Unterschenkel- stauungsekzem	80 E

Altersgruppe V (51 - 60 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
72	Z., 51	Psoriasis vulgaris	60 E
73	W., 53	Impetiginis. Ekzem	23 E
74	S., 54	Psoriasis vulgaris	40 E
75	S., 54	Plattenepithelcarcinom	80 E
76	M., 54	Hidradenitis axillaris	20 E
77	B., 55	Fußmykose	20 E
78	W., 56	Ulcus cruris, Diabetes mellitus	25 E
79	S., 56	Ulcus cruris, syst. Nävus	60 E
80	F., 57	Erythema centrifug. Darier	15 E
81	L., 58	Psoriasis vulgaris	10 E
82	G., 58	Hand-Fußmykose	50 E
83	B., 59	Lichen verrucosus	40 E
84	R., 60	Dermatitis	30 E
85	M., 60	Neurodermitis	80 E
86	M., 60	Cornu cutaneum	53 E
87	M., 60	Porphyria cutanea acuta	40 E
88	W., 57	Ulcus cruris	80 E

Altersgruppe VI (über 60 Jahre)

Nr.	Alter Jahre	Diagnose	gefundene Einheiten
89	E., 61	Psoriasis vulgaris	40 E
90	M., 62	Ekzem	80 E
91	S., 62	Pigmentiertes Fibrom	64 E
92	R., 62	Gesichtsekzem	17 E
93	A., 64	Mikrobielles Ekzem	46 E
94	M., 64	Ekzem	23 E
95	B., 66	Plattenepithelcarcinom	50 E
96	S., 66	Unterschenkelekzem	20 E
97	M., 68	Ulcus cruris	60 E
98	P., 70	Psoriasis vulgaris	10 E
199	H., 70	Ulcus cruris	40 E
100	L., 72	Unterschenkelekzem	20 E
101	S., 77	Erythrodermie	53 E
102	S., 78	Erythrodermie	50 E

9. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Berechnung des durchschnittlichen Wertes der vom Mann pro Tag im Urin ausgeschiedenen hypophysären Gonadotropine (M), ermittelt aus den Untersuchungen von 102 Patienten.

$$M = \frac{\sum x (1 - n)}{n}$$

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n}}$$

$$M = \frac{4969}{102} = 48,715 \sim 49$$

$$\delta = \sqrt{\frac{106\,321}{102}} = 32,29 \sim 32$$

Durchschnittswert M = 49 ± 32 Einheiten
=====

Berechnung der Durchschnittswerte der 6 Altersgruppen:

Gruppe I (15 Fälle)

Summe der gefundenen Werte:	680
Zahl der Fälle :	15
Mittelwert :	45 E
(auf-, bzw. abgerundet)	

Gruppe II

Summe :	1455
Zahl der Fälle :	24
Mittelwert :	61 E

Gruppe III

Summe :	862
Zahl der Fälle :	17
Mittelwert :	51 E

Gruppe IV

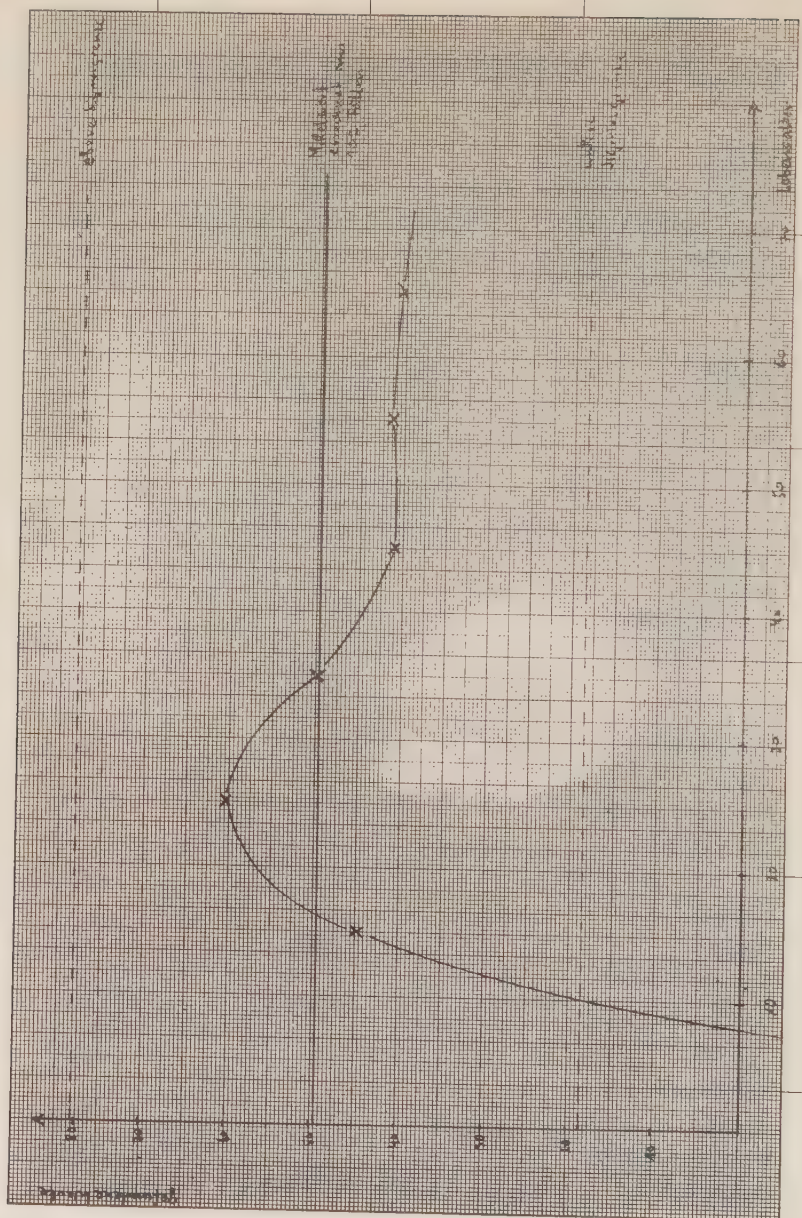
Summe :	673
Zahl der Fälle :	15
Mittelwert :	42 E

Gruppe V

Summe :	726
Zahl der Fälle :	17
Mittelwert :	43 E

Gruppe VI

Summe :	573
Zahl der Fälle :	14
Mittelwert :	41 E



10. ERGEBNISSE DER HAUPTVERSUCHE

1. Es ist möglich, nach Eluierung und Anreicherung der hypophysären Gonadotropine aus dem Urin des Mannes diese mit Hilfe des Pregnosticontestes annähernd quantitativ zu bestimmen.
Ihre Menge kann dabei in vergleichbaren Humanchoriongonadotropin-Einheiten angegeben werden.
2. Die durchschnittliche Ausscheidung pro 24 Stunden beträgt beim Mann:
$$.49 \pm 32 \text{ HCG-Einheiten.}$$
3. Die einzelnen Altersgruppen von 10 - 70 Jahren weisen dabei keine signifikanten Unterschiede in der Gonadotropinausscheidung auf.
4. Kinder vor der Pubertät weisen erheblich niedrigere oder keine Gonadotropinausscheidung auf.

11. PRAKTISCHE ERPROBUNG DER METHODE AN DREI FÄLLEN VON HYPOGONADISMUS (KLINEFELTER-SYNDROM, IDIOPATHISCHE TUBULUSDEGENERATION, BEIDSEITIGER KRYPTORCHISMUS)

Fall 1:

25-jähriger Patient mit echtem Klinefelter-Syndrom. Beide Hoden im Scrotum 2 cm von Pol zu Pol messend. Ejakulat 2,4 ml.

Nativpräparat: Keine Spermien. pH-Wert: 8. Fructose-
gehalt: 560 mg % (200 - 400 mg %).

17-Ketosteroidausscheidung nach ZIMMERMANN (15):

5,8 mg / die (normal 15 - 25 mg / die).

Im Chromatogramm nach DINGEMANSE (2): Keine Verschiebung
der Alpha- und Betasteroide.

Die Gonadotropinausscheidung betrug 108 Einheiten / die.

Der Chromatintest war positiv:

In 20 % der untersuchten Epithelzellen der Wangenschleim-
haut fanden sich Barr'sche Körperchen.

Die Chromosomenuntersuchung* ergab eine Geschlechtschromo-
somenkonstellation X X Y.

Fall 2:

53-jähriger Patient mit idiopathischer Tubulusdegeneration.

Beide Hoden im Scrotum ca. walnußgroß. Ejakulat 0,5 ml.

Nativpräparat: Keine Spermien. pH-Wert 7. Fructose-
gehalt 200 mg %.

17-Ketosteroidausscheidung: 1,7 mg / die (15-25 mg / die)

Chromatographische Auftrennung:

Fraktion I

(nicht alkoholische Steroide): . 8 % (normal 2-16 %)

* Herrn Prof. Dr. med. G. Koch, Vorstand des Instituts für
Humangenetik und Anthropologie der Universität Erlangen-
Nürnberg, und Fräulein Dr. rer. nat. M. Meyer bin ich für
die Chromosomenanalyse zu Dank verpflichtet.

Fraktion II + III

(Betasteroide=Metaboliten aus
der Nebennierenrinde) : 62 % (normal: 8-41 %)

Fraktion IV + V

(Alphasteroide=Metaboliten aus
des Testes) : 15,4 % (normal: 33-63 %)

Fraktion VI + VII

(11-Hydroxy-17-Ketosteroide): 12 % (normal: 4-23 %)

Fraktion VIII

(nicht identifizierbare) : 2,6 % (normal: 0-15 %)

Hypophysäre Gonadotropine: 160 Einheiten / die

Chromatintest negativ (Barr'sche Körperchen nur in 0,4 %)

Durch Hodenbiopsie gewonnenes Hodengewebe zeigte bei der
histologischen Untersuchung eine ausgedehnte und weit
fortgeschrittene Tubulusfibrose.

Fall 3:

33-jähriger Patient mit beidseitigem Kryptorchismus.

Keine Hoden im Scrotum.

Ejakulat 2 ml. Nativpraeparat/ Keine Samenfäden. pH 7,6.

Fructose 400 mg %. 17-Ketosteroide 17 mg / die.

Chromatographische Auftrennung:

Fraktion I	:	3 %	(2-16)
Fraktion II + III	:	12 %	(8-41)
Fraktion IV + V	:	70 %	(33-63)
Fraktion VI + VII	:	14 %	(4-23)
Fraktion VIII	:	1 %	(0-15)

Gonadotropinausscheidung: 50 / die

Beurteilung:

Untersucht wurde die Gonadotropinausscheidung von 3 Männern, die infolge einer Azoospermie infertil waren. In allen 3 Fällen lag ein primärer Hypogonadismus vor. Dabei fanden wir nach unserer Methode in einem Fall eine normale, in zwei Fällen eine signifikant erhöhte Gonadotropinausscheidung.

12. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND ZUSAMMENFASSUNG

1. Wie schon eingangs erwähnt, ist für die Diagnose der männlichen Fertilitätsstörungen oft die Frage nach der Beteiligung des Endokriniums mit von entscheidender Bedeutung, insbesondere da wir wissen, daß beim Vorliegen eines primären Hodenschadens die im Harn ausgeschiedene Gonadotropinmenge normal oder e r h ö h t, beim Vorliegen eines sekundären Hodenschadens aber v e r m i n d e r t ist.

2. Die durchgeführten Vor- und Hauptversuche haben gezeigt, daß es möglich ist, mit Hilfe des zum Nachweis von Humanchoriongonadotropin entwickelten immunologischen Pregnosticon^R-Testes auch hypophysäre Gonadotropine aus dem Urin des Mannes nachzuweisen.

Zur Gewinnung der hypophysären Gonadotropine wurde dabei die von TAUBERT und WELLER angegebene adsorptionschromatographische Methode (an Permutit) verwendet.

Bei der Anwendung von Verdünnungsreihen konnte unsere Nachweismethode auch zum halbquantitativen Nachweis der hypophysären Gonadotropine verwendet werden.

Dabei waren Gonadotropinverluste von etwa 20 % zu verzeichnen.

3. Bei der Bestimmung der Gonadotropinausscheidung von 102 Männern, die wegen verschiedener Dermatosen, nicht aber wegen Fertilitätsstörungen, in stationärer Behandlung standen, fanden wir als Durchschnittswert:

49 $\pm$ 32 Einheiten

(KLINFELTER fand für den Mann 6,6 - 53 Mäuseuteruseinheiten, TAUBERT 20 - 40 Mäuseuteruseinheiten).

4. Nach Eintritt der Pubertät scheint die tägliche Gonadotropinausscheidung zumindest bis ins 7. Dezenium annähernd gleich zu sein.

Wir haben die untersuchten 102 Patienten in 6 Altersgruppen aufgeteilt:

Für die einzelnen Gruppen fanden wir:

45 E zwischen 10 und 20 Jahren

61 E zwischen 21 und 30 Jahren

51 E zwischen 31 und 40 Jahren

42 E zwischen 41 und 50 Jahren

43 E zwischen 51 und 60 Jahren

41 E zwischen 61 und darüber.

Alle Gruppenmittelwerte liegen innerhalb eines Streubereiches von nur 12 Einheiten.

Zur Kontrolle unserer gefundenen Werte untersuchten wir auch die Urine (Halbtagsmenge) von 4 Kindern im Alter von 5 - 7 Jahre. Kinder vor der Pubertät weisen nach der Literatur (5) keine oder eine stark verminderte Gonadotropinausscheidung auf. Dabei fanden wir für einen 6-jährigen Knaben und ein ebenso altes Mädchen weniger als 1,3 E / die, für einen 5-jährigen Knaben 2 E / die, für ein 7-jähriges Mädchen 4 E / die.

5. a) Bei einem 25-jährigen Patienten mit einem KLINEFELTER-Syndrom fanden wir bei verminderter 17-Ketosteroidausscheidung eine Erhöhung der Gonadotropinausscheidung auf 108 E/die.

b) Bei einem 53-jährigen Patienten mit idiopathischer Tubulusdegeneration bei stark verminderter 17-Ketosteroidausscheidung eine Gonadotropinausscheidung von 160 E / die.

c) Bei einem 33-jährigen Patienten mit Kryptorchismus bei normaler 17-Ketosteroidausscheidung einen normalen Gonadotropinwert von 50 E / die.

Auch diese Ergebnisse stimmen mit den Literaturangaben überein, wonach bei einem primären Hypogonadismus die Gonadotropinausscheidung entweder normal oder erhöht sein soll (5).

Zusammenfassung:

Es konnte gezeigt werden, daß nach der Gewinnung hypophysärer Gonadotropine aus dem Urin des Mannes, diese mit Hilfe des

PREGNOSTICON-TESTES o h n e die bisher notwendigen Versuchstiere in einer einfachen und schnell durchführbaren Weise und für klinische Belange ausreichend genau nachgewiesen werden können.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBRIGHT, F., A.P. FORBES, F. FRASER, R.B. MILLER and E.G. REIFENSTEIN: Causes of Hypogonadism.
Trans.Ass. Amer. Phycns 56, 43 (1941)
2. DINGEMANSE, E. and S.L. HARTOGH-KATZ:
J. Clin. Endocrin. 12, 66 (1952)
3. DOCUMENTA GEIGY. Wissenschaftliche Tabellen.
6. Aufl. (1960), S. 442
4. EVANS, H.M. and M.E. SIMPSON: Physiology of the gonadotropins. Chapt. IV. in: The hormones. Hrg. von G. PINCUS und K.V. THIMANN, Bd. II, S. 351.
New York: Academic Press 1950
5. HEINKE, E. und R. DOEPFNER: Fertilitätsstörungen beim Manne.in: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrkh. von J. JADASSOHN. Ergänzungswerk VI/3.
Springer-Verlag 1960, S. 91, 117, 392, 400, 401 u.402
6. HELLER, C.G. and W.O. NELSON: Male hypogonadism.
Classification of male hypogonadism and a discussion of the pathologic physiology, diagnosis and treatment.
J. Clin. Endocrin. 10, 121 (1950)
7. HOWARD, R.P., R.C. SNIFFEN, F.A. SIMMONS and F. ALBRIGHT: Testicular deficiency.
J. Clin. Endocrin. 10, 121 (1950)
8. KLINEFELTER, H.F., jr., F. ALBRIGHT and G.C. GRISWOLD: Quantitative test for normal or decreased amounts of follicle-stimulating hormone in urine.
J. Clin. Endocrin. 3, 529 (1943)
9. LEVIN, L. and H.N. TYNDALE: The quantitative assay of follicle stimulating substances.
Endocrinology 21, 619 (1937)

10. MC CULLAGH, E.P.: Sex hormone deficiency. Recent.
Progr. Hormone Res. 2, 295 (1948)
11. SCHIROW, H.J.: Der Nachweis gonadotroper Hormone im
Urin unter Anwendung eigener technischer Modi-
fikationen.
Diss. Würzburg 1958
12. TAUBERT, M.: Über die hypophysären Gonadotropine und
die Bedeutung ihrer Bestimmung für die Diagnostik
endokriner Störungen.
Medizinische 17, 649 (1956)
13. TAUBERT M. und O. WELLER: Chromatographische Gonado-
tropingewinnung.
Klin. Wschr. 34, 84 (1956)
14. WIDE, L. and GEMZELL: Acta endocr. (Kbh) 35, 261
(1960)
15. ZIMMERMANN, W.: Chemische Bestimmungsmethoden von
Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten.
Springer-Verlag 1955.

LEBENS LAUF

Am 8. Juli 1939 wurde ich, Josef Willibald Wutz, als Sohn des Bezirksarztes von Wolfstein, Dr. med. Josef Wutz und seiner Ehefrau Helene, geb. Zimmerer, in Freyung v.W. in Niederbayern geboren.

Von 1945-1949 besuchte ich die Volksschulen in Freyung und Deggendorf.

1949 kam ich an das Humanistische Gymnasium in Metten. 1953 trat ich in die Oberrealschule in Deggendorf über. 1959 bestand ich dort das Abitur.

Anschließend studierte ich in Erlangen Medizin.

Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich im Sommer 1960, die ärztliche Vorprüfung im April 1962, die ärztliche Prüfung im Sommer 1965.

Von September 1965 - Februar 1966 war ich als Medizinalassistent an der Universitäts-Hautklinik Erlangen tätig. Dort hatte ich Gelegenheit, die vorliegende Arbeit experimentell durchzuführen.

Von März 1966 - Dezember 1966 arbeitete ich als Medizinalassistent im Kreiskrankenhaus Kelheim.

Seit Januar 1967 bin ich wieder als Medizinalassistent an der Universitäts-Hautklinik Erlangen tätig.

Offsetdruck - Fotodruck

- J. Hög l, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Telefon 22990 -